Arnaldoa 22 (1): 269 - 288, 2015 ISSN: 1815-8242

Estudio exomorfológico y fitoquímico de los bulbos de dos especies endémicas del Perú de la familia Amaryllidaceae

Exomorpholigical and phytochemical screening of the bulbs of two Peruvian endemic species of Amaryllidaceae family


Marilú Roxana Soto Vásquez
Área de Farmacognosia. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de Trujillo.
Av. Juan Pablo II s/n. Trujillo-Perú
msoto@unitru.edu.pe
Milagros Joselyn Leiva Salinas
Facultad de Medicina Humana, Universidad Privada Antenor Orrego,
Casilla Postal 1075, Trujillo, Perú
mila_j94@hotmail.com

Resumen

Con el propósito de contribuir al conocimiento científico de especies endémicas del Perú, se realizó el estudio exomorfológico y fitoquímico de los bulbos de *Clinanthus microstephium* (Ravenna) Meerow *e Ismenes amancaes* (Ker Gawl.) Herb. (Amaryllidaceae), las cuales fueron recolectadas en los alrededores de los lugares denominados Tablón y Rayanpampa, al oeste de Salpo, provincia Otuzco, región La Libertad, Perú. Las descripciones exomorfológicas se hicieron con plantas *in situ*. El tamizaje fitoquímico se realizó mediante una extracción sucesiva con solventes de polaridad ascendente (diclorometano, etanol y agua), y se procedió a realizar la identificación del tipo cualitativo, haciendo uso de reactivos de coloración y precipitación. Los bulbos de ambas especies presentan una gran variedad de fitoconstituyentes, entre ellos alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, antocianidinas, triterpenos, esteroides, azúcares reductores, aceites y grasas, aminoácidos, resinas y mucílagos; mientras que solo se encontró lactonas y cumarinas en la especie *Clinanthus microstephium*.

Palabras clave: Amaryllidaceae, bulbos, *Clinanthus microstephium, Ismene amancaes*, fitoquímica.

Abstract

In order to contribute to scientific knowledge of endemic species of Peru, the exomorphological and phytochemical screening of bulbs of *Clinanthus microstephium* (Ravenna) Meerow and *Ismenes amancaes* (Ker Gawl.) Herb. (Amaryllidaceae) was performed, which were collected around places called El Tablón and Rayanpampa, west of Salpo province Otuzco, La Libertad region, Peru. Exomorphological descriptions of plants were done *in situ*. Phytochemical screening was performed by successively extraction using solvents of ascending polarity (dichloromethane, ethanol and water), and proceeded to make the qualitative identification, using coloring and precipitation reagents. It was found a high diversity of phytoconstituents such as alkaloids, phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins, triterpenes, steroid, reducing sugars, oils and fats, amino acids, resins and mucilages in bulbs of both species; while lactones and coumarins were found only in the bulbs of Clinanthus microstephium.

Keywords: Amaryllidaceae, bulbs, *Clinanthus microstephium, Ismene amancaes,* , phytochemical.

Introducción

Desde los albores de la humanidad, el hombre ha usado las plantas como un recurso de importancia para cubrir sus necesidades terapéuticas, saber que se ha ido trasmitiendo de generación en generación a tal punto que, según la Organización Mundial de la Salud, alrededor de 80% de la población mundial confía en las plantas para resolver sus problemas de salud (OMS, 2002).

Las plantas elaboran productos denominados fitoconstituyentes, los cuales se pueden dividir en metabolitos primarios y secundarios. Los primeros son abundantes en la naturaleza, se encuentran presentes en grandes cantidades y son indispensables para el desarrollo fisiológico de la planta. Son de fácil extracción y su explotación es relativamente barata, además, estos conducen a la síntesis de los metabolitos secundarios, los cuales son de distribución limitada; aunque más interesantes para la ciencia por sus diversas propiedades biológicas (García, 2008).

En las plantas, los principios activos o fitoconstituyentes, se hallan biológicamente equilibrados por la presencia de sustancias complementarias, que van a potenciarse entre sí, de forma que, no se acumulan en el organismo, y sus efectos indeseables están limitados. Sin embargo, a pesar de que han aumentado las investigaciones y estudios

científicos de las plantas medicinales, aún no se conocen muchos de los principios activos a los que deben las plantas sus extraordinarias cualidades, por lo que, existe una ingente búsqueda de encontrar nuevos principios activos que pueda ser la punta de lanza de nuevos fármacos, y así, satisfacer las necesidades de salud de la población (Torres, 2013).

Dentro de los principales metabolitos podemos encontrar los flavonoides, los cuales son compuestos fenólicos que suelen encontrarse bajo la forma de glucósidos con una o dos unidades de azúcar; las cumarinas, que se presentan a menudo en forma libre, mezcladas o glucósidos. También se encuentran los esteroides, las saponinas triterpenoidales y esteroidales. Los alcaloides, constituyen el grupo más grande de metabolitos secundarios que pueden encontrar en estado libre, como glucósido o formando sales con ácidos (Villar, 1999).

El Perú es considerado el tercer país mega diverso del planeta, lo que implica, que en nuestro territorio existe un gran potencial de estudio de muchas especies vegetales, 50 000 para ser exactos, lo que constituye el 20% de las especies del planeta, de las que, 2 000 han sido utilizadas con fines curativos. Las variadas condiciones climáticas y geográficas que nuestro país ofrece, han permitido que se desarrolle esta gran diversidad de flora, existiendo una gran cantidad de especies conocidas, así como por descubrir (UNIDO, 2006), por lo que, urge la necesidad de estudios preliminares para poder conocer, las que pueden tener potencial terapéutico, por lo que, es necesario estudiarlas y conocer preliminarmente su composición fitoquímica para abrir paso a estudios más profundos que puedan determinar a estas nuevas especies como fuentes potenciales de nuevos fármacos. Realizar el estudio exomorfológico y fitoquímico de los bulbos de dos especies endémicas del Perú de la familia Amaryllidaceae es el principal aporte de este trabajo.

Material y métodos

El material estudiado corresponde a las recolecciones efectuadas desde el año 1999 hasta la actualidad por S. Leiva & M. Leiva (HAO); M. Soto (UNT), en las diversas expediciones en el Norte del Perú, especialmente al Dpto. La Libertad (región La Libertad), Prov. Otuzco, en los alrededores de los lugares denominados Tablón y arriba de Rayanpampa (al oeste de Salpo), a los 8º00’39,9”-8º00’47,0”S S y 78º40’04,1”-78º40’06,5” W, y entre 1927-1981 m de elevación para la especie *C.microstephium*; y en la ruta Tablón-Rayanpampa a 8º01’16,9”S y 78º39’44,0” W, 2121 m de elevación, para *I. amancaes*. Las recolecciones se encuentran registradas principalmente en los herbarios CCSU, CORD, F, HAO, HUT, MO. Paralelo a las recolecciones de herbario se fijó y conservó material en alcohol etílico al 30% o AFA, para realizar estudios en detalle de los órganos vegetativos y reproductivos y para la elaboración de las ilustraciones respectivas. Las descripciones están basadas en caracteres exomorfológicos, que se tomaron *in situ*; se presentan también, fotografías, datos de su distribución geográfica y ecología, fenología, estado actual, nombres vulgares y usos de las especies.

Los acrónimos de los herbarios son citados según Thiers (2013).

Preparación de la muestra

Los bulbos de las especies en estudio fueron seleccionados, lavados y desinfectados con hipoclorito de sodio a 200 ppm. Luego, se cortaron en láminas finas, las que fueron secadas a temperatura

ambiente y posteriormente colocadas en estufa a 40°C por 3 días. Una vez secos, fueron pulverizados en un mortero y tamizados a través del tamiz de malla N° 20. Finalmente, el polvo tamizado de los bulbos fue almacenado en frascos de color ámbar de boca ancha.

Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico se realizó según el método de Miranda & Cuellar (2002) modificado. Se pesaron exactamente 30 g de cada una de las muestras y, se procedió a la acción extractiva de solventes de polaridad creciente: diclorometano, etanol y agua. La extracción se realizó por maceración de la droga pulverizada, por un tiempo de 48 h. Luego de la preparación de los extractos, se realizaron diferentes ensayos con reacciones químicas de identificación, mediante cambios de color o formación de precipitados, para determinar la presencia de fitoconstituyentes: Alcaloides (Dragendorff, Mayer & Wagner), compuestos fenólicos (cloruro férrico), flavonoides (Shinoda), antocianidinas, catequinas, taninos (gelatina), lactonas y/o cumarinas (Baljet), triterpenos y esteroides (Liebermann-Burchard), cardenólidos (Kedde), quinonas (Borntrager), saponinas (espuma), azúcares reductores (Fehling), aceites y grasas (Sudan III), aminoácidos (Ninhidrina) y resinas.

Resultados y discusión

A. Descripciones exomorfológicas:

1. *Clinanthus* Herb., Appendix 40, 1821.

Hierbas perennes. Hojas sésiles, hasta 50-60 cm de largo; láminas lineares o ensiformes, un nervio principal diferenciado, venación aplanada. Inflorescencias con 2-10 flores, los escapos comprimidos y alados. Flores grandes y vistosas, principalmente rosadas o rojas, a menudo verdes en el ápice, subsésiles o cortamente pediceladas; hypanto infundibuliforme-campanulado, infundibuliforme o tubular, el tubo siempre más largo que el limbo. estambres 6, connados basalmente en una copa estaminal cilíndrica exerta de la garganta del hypanto, la porción libre de los filamentos adheridos al borde de la copa estaminal, a menudo con un apéndice pequeño dentado entre ellos; anteras dorsifijas, 4-esporangiadas, ditécicas, con dehiscencia longitudinal. Ovario ínfero, 3-carpelar, 3-locular, comprimido, numerosos óvulos por lóculo, estilo filiforme, alargado, exerto; estigma capitado. Cápsula loculicida, verde o glauca a la madurez. Semillas numerosas, pardo o negras, planas, ligeramente aladas.

Clinanthus tiene 22 especies originarias especialmente de los Andes. En el Perú habitan unas 14, de ellas 11 son endémicas; destaca en el norte de Perú la especie: *Clinanthus microstephium* (Ravenna) Meerow.

***Clinanthus microstephium* (Ravenna) Meerow**, Syst. Bot. 25: 723, 2000. (Fig. 1-2)

Hierba (30-) 50-60 cm de alto. Raíces numerosas, blanco-cremosas, suculentas, sinuosas, ciliadas, 8-10 cm de longitud. Bulbos globosos, blancos-cremosos, compactos, crasos, 5,5-7 cm de largo por 6-6,2 cm de diámetro; rodeados por varias capas de escamas, catáfilas o binzas, concéntricas, membranáceas, marrón-claro, se desprenden y rompen con facilidad, glabras. Hojas 4, arrosetadas; sésiles; láminas lineares, ligeramente inclinadas o reflexas hacia la superficie abaxial, suculentas, verde-oscuro, lustrosa la superficie adaxial, verde-claro la superficie abaxial, glabras en ambas superficies, aplanadas las nervaduras principales en la superficie abaxial, agudas en el ápice, ligeramente cuneadas en la base, enteras en los bordes,

46-49 cm de largo por 2,7-2,8 cm de ancho. Inflorescencias con 10 flores dispuestas en pseudoumbelas, no sincronizadas; escapo semirrollizo (elíptico en sección transversal), 2 bordes, verde, suculento, lustroso, quebradizo, poroso, terete, glabro en ambas superficies, ligeramente inclinado hacia la superficie abaxial, 51-54 cm de largo; brácteas membranáceas, papiráceas, cremosas o ligeramente amarillentas, glabras que envuelven la base de las flores, marscesentes; pedicelos filiformes ampliándose ligeramente hacia el área distal, verdes, suculentos, glabros, 2-bordes, ligeramente curvado hacia la superficie abaxial, 1,7-1,8 cm de largo. Flores trímeras, actinomorfas, bisexuales. Hipanto homoclamídeo, corolino, infundibuliforme ampliándose ligeramente hacia el área distal, suculento, corolino, rojo-anaranjado externamente, rojizo interiormente, glabro externa e interiormente, 5-costado, 25-27 mm de largo por 9-10 mm de diámetro en el área distal; copa estaminal anular dispuesta en el borde interno del tubo corolino o cerca de la garganta del hipanto, cremoso externa e interiormente, verde-oscuro en el área interlobular, glabro externa e interiormente, suculento, 2-3 mm de largo por 6-7 mm de diámetro, se prolonga en una membrana tubular, membranosa transparente, arrugada que se inserta desde el borde de la copa estaminal hasta la región ventricosa cerca de la base, 23-25 mm de largo por 6-7 mm de diámetro en el área distal; perianto, lóbulos triangulares, verdo-cremoso externa e interiormente, verde-oscuro en los interlóbulos externamente, suculentos, glabros externa e interiormente, 2-2,2 mm de largo por 3-3,2 mm de ancho. Sépalos 3, oblongos o ampliamente triangulares, ligeramente cóncavos, verde el área central con los márgenes anaranjado-rojizo externa e interiormente, apículo en el ápice, glabro en ambas superficies, suculentos, erectos, nunca sobresalientes la nervaduras principales externamente, 12-12,5 (-14) mm de largo por 4,5-5 mm de ancho; 20-22 mm de largo por 6-8 mm de diámetro; 10-14 mm de diámetro del limbo en la antésis. Pétalos 3, oblongos, acuminados en el ápice, verde-oscuro el área central con los márgenes anaranjados externamente, verdoso el área central con los márgenes anaranjados interiormente, glabros en ambas superficies, suculentos, erectos, redondeados en el ápice, nunca revolutos, nunca sobresalientes las nervaduras principales externamente, 10-10,5 (-14) mm de largo por 4,5-5 mm de ancho; 12-13 mm de diámetro del limbo en la antésis. Estambres 6, conniventes, exertos, insertos a 1,3-1,4 mm del borde distal interno del tubo corolino; filamentos estaminales homodínamos; área libre de los filamentos filiformes, blanco-cremosos, glabros, dorsifijos en la hemialtura, adheridos al borde de la copa estaminal, introrsos, 1-1,2 (-4) mm de longitud; área soldada aplanada, cremosa, glabra; anteras lineares, parduzcas o marrón-claro, blanquecino las suturas, sin mucrón apical, glabras, (3-) 7-7,2 mm de largo por 1,8-2 mm de diámetro. Ovario ínfero, piriforme, verde-oscuro, lustroso, glabro, 3-anguloso, 7-8 mm de largo por 4-5 mm de diámetro; estilo incluso, filiforme, torcido, blanco-cremoso, lustroso, glabro, 29-30 (-36) mm de longitud; estigma semigloboso, verde-oscuro, 1,7-2 mm de diámetro. Cápsula erecta, tricoca, verdosa o glauca, 10-11 mm de alto por 19-20 mm de diámetro. Semillas (33-) 36-45 (-58) por cápsula a lo largo de 6 placentas, aplanadas, ligeramente poliédricas, lustroso-brillante, frágiles, negras, glabras, angostamente alada en los bordes, 7-7,2 mm de largo por 4-6,5 mm de diámetro.

Material adicional examinado

PERÚ. **Dpto. La Libertad,** Prov. Otuzco,

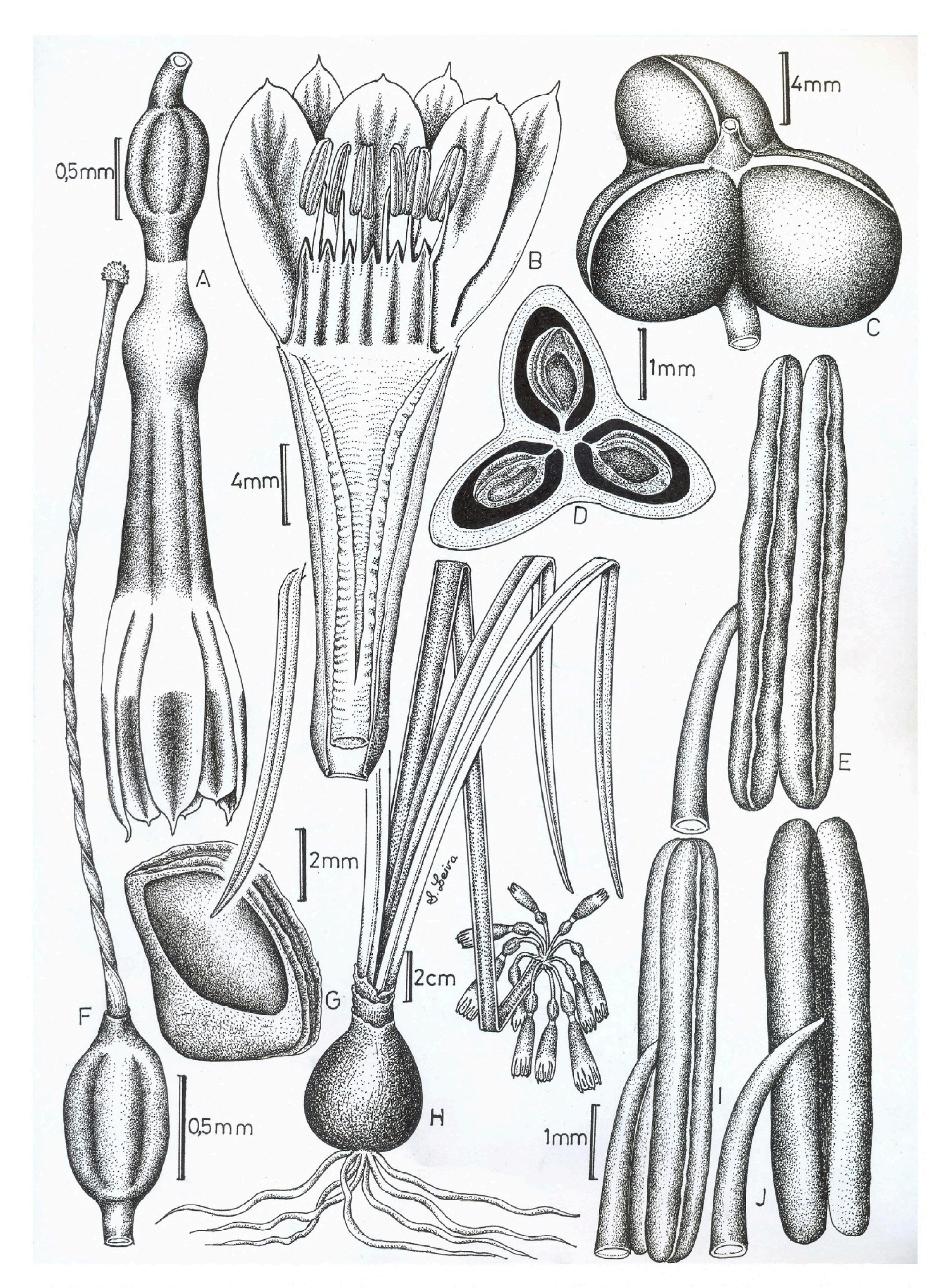


Fig. 1. ***Clinanthus microstephium*** **(Ravenna) Meerow**, A. Flor en antésis; B. Flor desplegada; C. Cápsula; D. Cápsula en sección transversal; E. Antera en vista ventral; F. Gineceo; G. Semilla; H. Rama florífera; Antera en vista lateral; J. Antera en vista dorsal. (Dibujado de S. Leiva & M. Leiva 5717,HAO)



Fig. 2. *Clinanthus microstephium* (Ravenna) Meerow, A. Rama florífera; B. Inflorescencia; C. Rama mostrando un bulbo; D. Bulbo (Fotografías de S. Leiva & M. Leiva 5717,HAO)

Distrito Salpo, El Tablón-Rayampampa, 8º00'39,9"S y 78º40'04,1" W, 1927 m, 18-I-2015, *S. Leiva & M. Leiva 5703* (HAO, HUT).- Rayanpampa-El Tablón, 8º00'47,0"S y 78º40'06,5" W, 1981 m, 31-I-2015, *S. Leiva, M. Leiva & M. Soto, 5705* (HAO, HUT), Rayanpampa-El Tablón, 8º00'47,0"S y 78º40'06,5" W, 1861, 14-II-2015, *S. Leiva & M. Leiva 5716* (HAO)-Alrededores del Tablón, 8º00'47,0"S y 78º40'06,5" W, 1981 m, 14-II-2015; , *S. Leiva & M. Leiva 5717* (CCSU, CORD, F, HAO, HUT, MO). A 5 minutos desde el Puente Casmiche hacia Salpo, 8º19'44,2"S y 78º58'39,0" W, 2008, *S. Leiva, B. Gonzáles & T. Bos, 5832* (HAO).

Distribución y ecología: Especie con distribución limitada y aparentemente endémica a la zona de recolección en donde es abundante. A pesar de haberse efectuado recolecciones aledañas, solamente a sido encontrada en la ruta entre El Tablón y Rayampampa (al oeste de Salpo), Distrito Salpo, Prov. Otuzco, Dpto. La Libertad, Perú, entre los 8º00'39,9"-8º00'47,0"S y 78º40'04,1"-78º40'06,5" W, entre los 1927-1981 m de elevación, como un integrante de la vegetación herbácea y arbustiva de los bordes de camino, prefiere suelos húmedos, tierras negras con abundante humus, entre rocas, y vive asociada con plantas de *Eriotheca ruizi* (K. Schum.) A. Robyns "pate" (Malvaceae); *Caesalpinia spinosa* (Feuillée ex Molina) Kuntze "taya" (Malvaceae); *Carica candicans* A. Gray "papaya silvestres" "odeque" (Caricaceae); *Apodanthera ferreyrana* Mart. Crov. "chiclayito" (Cucurbitaceae); *Lycianthes lycioides* (L.) Hassl. "tomatito del valle", *Nicandra physalodes* (L.) Gaertn. "capulí cimarrón"; *Nicandra john-tyleriana* S. Leiva & Pereyra "capulí cimarrón" (Solanaceae), entre otras.

Fenología: Es una especie perenne, que brota con las primeras lluvias de noviembre o diciembre, para luego florecer y fructificar desde el mes de enero hasta finales de marzo.

Estado actual: Utilizando los criterios del IUCN (IUCN 2012) *C. microstephium* es considerada en peligro crítico (CR). La extensión de su rango de distribución es de un radio menor a 100 km^2 en los alrededores del lugar denominado, arriba de Rayanpampa (ruta Salpo-Rayanpampa), siendo ésta la única localidad donde se ha recolectado (Criterio B1). Asimismo, se han encontrado menos de 100 individuos maduros en la población (Criterio D), siendo influenciada directamente por el centro urbano que transita por la ruta entre Salpo hacia Rayampampa o Platanar. Sin embargo, no se ha evaluado si existe una declinación del rango de distribución y del área de ocupación, siendo de necesidad urgente de un estudio en profundidad de la ecología, estructura poblacional y distribución de esta especie, para esclarecer su estado de conservación.

Nombre vulgar: "cebolla de gallinazo" (En boleta, S. Leiva & M. Leiva 5717, HAO)

Usos: Las plantas muy bien pueden ser usadas en floricultura, por los intensos colores anaranjado-rojizas de sus flores.

2. *Ismene Salisb.* ex Herb., Appendis 45, 1821.

Hierba de 30-40 (-60) cm de alto. Raíces numerosas, blanco-cremosas, suculentas, sinuosas, 20-30 cm de longitud. Bulbos globosos, blanco-cremosos, compactos, crasos; rodeados por varias capas de escamas, catáfilas o binzas, concéntricas, membranáceas o cartáceas, marrones-claro, se desprenden y rompen con facilidad, glabras. Hojas arrosetadas; sésiles; láminas lineares o ensiformes, ligeramente inclinadas o reflexas hacia la superficie

abaxial, suculentas, verde-oscuro, lustrosa la superficie adaxial, verde-claro la superficie abaxial, glabras en ambas superficies, ligeramente sobresalientes las nervaduras principales en la superficie abaxial, agudas en el ápice, ligeramente cuneadas en la base, enteras en los bordes. Inflorescencias con 3-6 flores dispuestas en pseudoumbelas, no sincronizadas; escapo semirrollizo (elíptico en sección transversal), 2 bordes, verde, suculento, lustroso, quebradizo, poroso, glabro en ambas superficies, erecto; brácteas membranáceas, papiráceas, cremosas o ligeramente amarillentas, glabras que envuelven la base de las flores, marscesentes; pedicelos trígonos ampliándose ligeramente hacia el área distal, verdes, suculentos, glabros, lustrosos, 2-bordes, ligeramente curvado hacia la superficie abaxial. Flores trímeras, actinomorfas, bisexuales; hypanto homoclamídeo, corolino, infundibuliforme ampliándose ligeramente hacia el área distal, verde externamente, verdoso interiormente, suculento, glabro externa e interiormente, 5-costado, ligeramente curvado hacia la superficie abaxial. Sépalos 3, largamente triangulares, amarillo-intenso y verde-intenso en el área distal externa e interiormente, glabros externa e interiormente, membranáceos o ligeramente suculentos, reflexos o involutos en el ápice;. Pétalos 3, largamente triangulares, amarillo-intenso externa e interiormente, verde el ápice externamente, glabros externa e interiormente, membranáceos o ligeramente suculentos, erectos, nunca reflexos, nunca revolutos en los bordes, ligeramente sobresalientes las nervaduras principales. paracorola crateriforme o ligeramente campanulada, suculenta, amarillo-intenso externa e interiormente, nervaduras principales verde-intenso interiormente, glabra externa e interiormente, fimbriada en el borde. Estambres 6, nunca conniventes, inclusos, insertos en ¼ distal del interior de la paracorola; filamentos estaminales homodínamos; área libre de los filamentos filiformes ampliándose ligeramente hacia el área basal, amarillos, glabros, erectos, introrsos, lustrosos, dorsifijos; área soldada aplanada, verde-intenso, glabra, lustrosa; anteras lineares, ligeramente curvadas, amarillo, sin mucrón apical, glabras. Ovario ínfero, piriforme o cónico, trígono, verde-oscuro, lustroso, glabro; estilo exerto, filiforme ampliándose ligeramente hacia el área distal, verdoso, lustroso, glabro; estigma semigloboso, verde-oscuro, con pelos o papilas, suculento. Cápsula erecta, tricoca, verdosa (inmadura) o glauca. Semillas numerosas por cápsula a lo largo de 6 placentas, aplanadas, ligeramente poliédricas, lustroso-brillante, frágiles, negras, glabras, angostamente alada en los bordes.

Ismene tiene 10-14 especies originarias de los Andes. En el Perú habitan 10 especies, de ellas 8 son endémicas; destaca en el Norte de Perú *I. amancaes* (Ker Gawl.) Herb., App. Bot. Reg. 46, 1821, “amancay”.

***Ismene amancaes* (Ker Gawl.) Herb.**, App. Bot. Reg. 46, 1821, (Fig. 3)

Hierba de 30-40 (-60) cm de alto. Raíces numerosas, blanco-cremosas, suculentas, sinuosas, ciliadas, 20-30 cm de longitud. Bulbos globosos, blanco-cremosos, compactos, crasos, 7-7,5 cm de largo por 6-6,5 cm de diámetro; rodeados por varias capas de escamas, catáfilas o binzas, concéntricas, membranáceas o cartáceas, marrones-claro, se desprenden y rompen con facilidad, glabras. Hojas arrosetadas; sésiles; láminas lineares o ensiformes, ligeramente inclinadas o reflexas hacia la superficie abaxial, suculentas, verde-oscuro, lustrosa la superficie adaxial, verde-claro la superficie abaxial, glabras

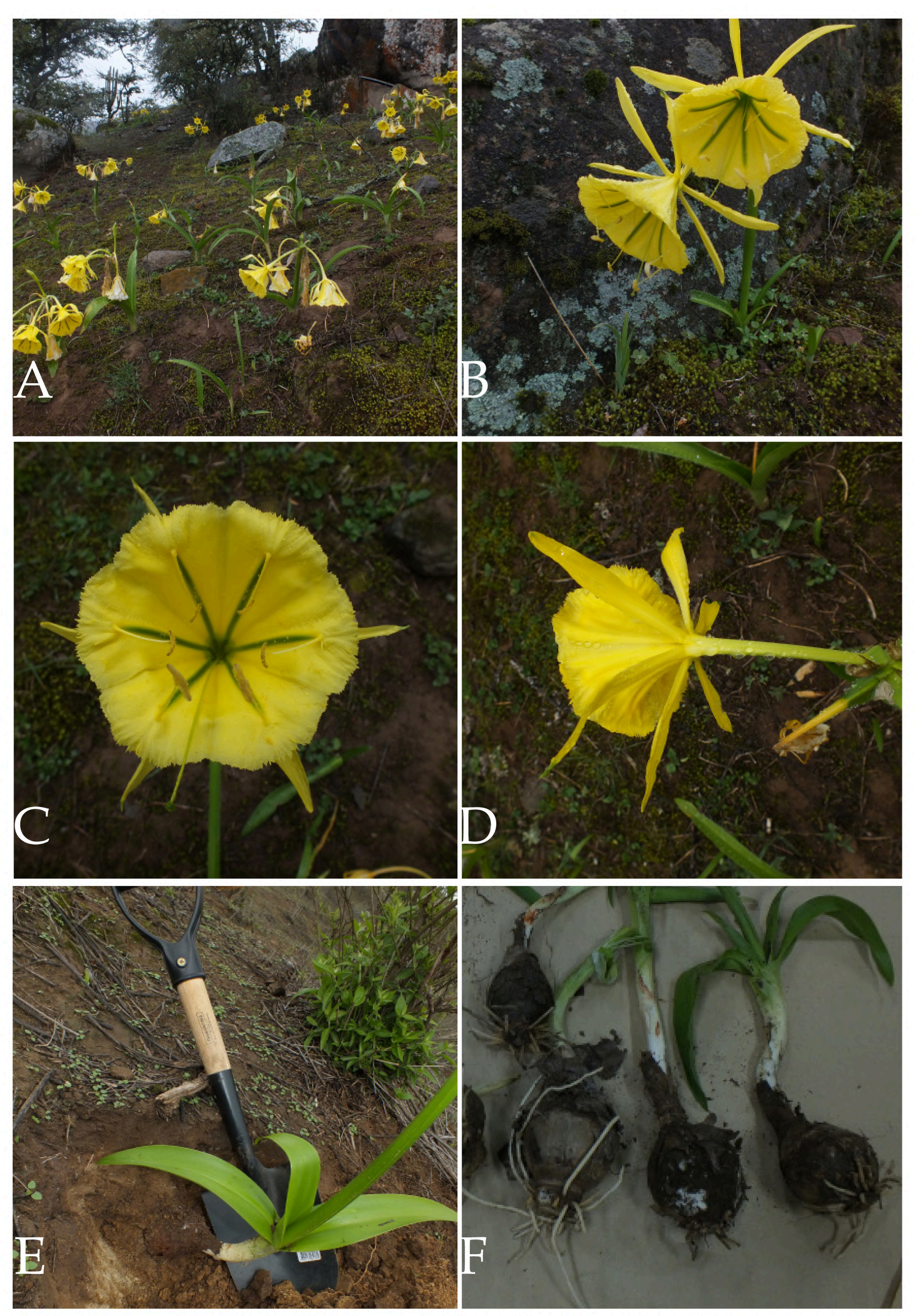


Fig. 3. ***Ismene amancaes***, A. Población en antésis; B. Planta en antésis; C. Flor en antésis vista interna; D. Flor en antésis vista externa; E. Extracción de un bulbo; F. Bulbos (Fotografías de S. Leiva & M. Leiva 5703,HAO)

en ambas superficies, ligeramente sobresalientes las nervaduras principales en la superficie abaxial, agudas en el ápice, ligeramente cuneadas en la base, enteras en los bordes, 30-35 (-40) cm de largo por 4,8-5 cm de ancho. Inflorescencias con 3-6 flores dispuestas en pseudoumbelas, no sincronizadas; escapo semirrollizo (elíptico en sección transversal), 2 bordes, verde, suculento, lustroso, quebradizo, poroso, glabro en ambas superficies, erecto, 25-28 cm de largo; brácteas membranáceas, papiráceas, cremosas o ligeramente amarillentas, glabras que envuelven la base de las flores, marscesentes; pedicelos trígonos ampliándose ligeramente hacia el área distal, verdes, suculentos, glabros, lustrosos, 2-bordes, ligeramente curvado hacia la superficie abaxial, 0,8-1,2 cm de largo. Flores trímeras, actinomorfas, bisexuales. Hipanto homoclamídeo, corolino, infundibuliforme ampliándose ligeramente hacia el área distal, verde externamente, verdoso interiormente, suculento, glabro externa e interiormente, 5-costado, ligeramente curvado hacia la superficie abaxial, 8,5-8,7 cm de largo por 1-1,2 cm de diámetro en el área distal. Sépalos 3, largamente triangulares, amarillo-intenso y verde-intenso en el área distal externa e interiormente, glabros externa e interiormente, membranáceos o ligeramente suculentos, reflexos o involutos en el ápice, 7,5-7,8 cm de largo por 8,5-8,6 cm de ancho; 9-10 cm de diámetro del limbo en la antésis. Pétalos 3, largamente triangulares, amarillo-intenso externa e interiormente, verde el ápice externamente, glabros externa e interiormente, membranáceos o ligeramente suculentos, erectos, nunca reflexos, nunca revolutos en los bordes, ligeramente sobresalientes las nervaduras principales, 7,4-7,6 cm de largo por 1-1,2 cm de ancho. 9-10 cm de diámetro del limbo en la antésis. Paracorola crateriforme o ligeramente campanulada, suculenta, amarillo-intenso externa e interiormente, nervaduras principales verde-intenso interiormente, glabra externa e interiormente, fimbriada en el borde, 6-6,2 cm de largo por 8,5-9 cm de diámetro. Estambres 6, nunca conniventes, inclusos, insertos a 5,3-5,5 cm o en ¼ distal del interior de la paracorola; filamentos estaminales homodínamos; área libre de los filamentos filiformes ampliándose ligeramente hacia el área basal, amarillos, glabros, erectos, introrsos, lustrosos, dorsifijos, 1,9-2,1 cm de longitud; área soldada aplanada, verde-intenso, glabra, lustrosa; anteras lineares, ligeramente curvadas, amarillo, sin mucrón apical, glabras, 11-12 mm de largo por 2-2,2 mm de diámetro. Ovario ínfero, piriforme o cónico, trígono, verde-oscuro, lustroso, glabro, 1,5-1,7 cm de largo por 0,8-0,9 cm de diámetro; estilo exerto, filiforme ampliándose ligeramente hacia el área distal, verdoso, lustroso, glabro, 15,8-15,9 cm de longitud; estigma semigloboso, verde-oscuro, con pelos o papilas, suculento, 2,4-2,6 mm de diámetro. Cápsula erecta, tricoca, verdosa (inmadura) o glauca, 2,3-2,5 cm de alto por 1,8-2 cm de diámetro. Semillas numerosas por cápsula a lo largo de 6 placentas, aplanadas, ligeramente poliédricas, lustroso-brillante, frágiles, negras, glabras, angostamente alada en los bordes, 17-18 mm de largo por 7-7,3 mm de diámetro.

Material adicional examinado

PERÚ. **Dpto. La Libertad**, Prov. Otuzco, Distrito Salpo, El Tablón-Rayampampa, 8°01′16,9″S y 78°39′44,0″ W, 2121 m, 18-I-2015, *S. Leiva & M. Leiva 5702* (CCSU, CORD, F, HAO, HUT, MO).- Rayanpampa-El Tablón, 8°01′16,9″S y 78°39′44,0″ W, 2121 m, 31-I-2015, *S. Leiva, M. Leiva & M. Soto 5704* (HAO, HUT).-El Tablón, 8°01′16,7″S

y 78°39'52,5" W, 14-II-2015, *S. Leiva 5715* (HAO).

Distribución y ecología: Especie con distribución limitada y aparentemente quedarían los últimos refugios de esta especie en el Perú; es la única área donde vive en el Dpto. La Libertad, en la cual es abundante. A pesar de haberse efectuado recolecciones aledañas, solamente a sido encontrada en la ruta entre El Tablón y Rayampampa (al oeste de Salpo), Distrito Salpo, Prov. Otuzco, Dpto. La Libertad, Perú, alrededor de los 8°01'16,9"S y 78°39'44,0" W, y los 2121 m de elevación, como un integrante de la vegetación herbácea y arbustiva de los laderas, bordes de caminos, entre rocas, prefiere suelos húmedos, tierras negras con abundante humus, y vive asociada con plantas de *Eriotheca ruizi* (K. Schum.) A. Robyns "pate" (Malvaceae); *Caesalpinia spinosa* (Feuillée ex Molina) Kuntze "taya" (Malvaceae); *Carica candicans* A. Gray "papaya silvestres" "odeque" (Caricaceae); *Apodanthera ferreyrana* Mart. Crov. "chiclayito" (Cucurbitaceae); *Lycianthes lycioides* (L.) Hassl. "tomatito del valle", *Nicandra physalodes* (L.) Gaertn. "capulí cimarrón"; *Nicandra john-tyleriana* S. Leiva & Pereyra "capulí cimarrón" (Solanaceae), entre otras.

Fenología: Es una especie perenne, que brota con las primeras lluvias de noviembre o diciembre, para luego florecer y fructificar desde el mes de enero hasta finales de febrero.

Estado actual: Utilizando los criterios del IUCN (IUCN 2012) *I. amancaes* es considerada en peligro crítico (CR). La extensión de su rango de distribución es de un radio menor a 100 km^2 en la ruta El Tablón hacia Rayampampa (en la ruta Salpo-Rayampampa), siendo ésta la única localidad donde se ha recolectado el el Dpto. La Libertad (Criterio B1). Asimismo, se han encontrado unos 100 individuos maduros en la población (Criterio D), siendo influenciada directamente por el centro urbano que transita por la ruta entre Salpo hacia Rayampampa o Platanar. Sin embargo, no se ha evaluado si existe una declinación del rango de distribución y del área de ocupación, siendo de necesidad urgente de un estudio en profundidad de la ecología, estructura poblacional y distribución de esta especie, para esclarecer su estado de conservación.

Nombre vulgar: "amancae", "cebolla de gallinazo" (En boleta, S. Leiva & M. Leiva 5703, HAO)

Usos: Las plantas muy bien pueden ser usadas en floricultura, por los intensos colores amarillo-intenso de sus flores.

B. Resultados fitoquímicos

El screening o tamizaje fitoquímico es una etapa inicial y primordial para la investigación fitoquímica, debido a que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una determinada especie vegetal, y a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los metabolitos de mayor interés (Lock, 1994).

En la tabla 1, se muestran los resultados del tamizaje fitoquímico realizado a los bulbos de las especies de *C. microstephium* e *I. amancaes*, notándose una gran variedad de fitoconstituyentes, entre ellos, alcaloides que se evidenciaron en los extractos etanólicos y acuoso de ambos bulbos, siendo de alta a moderada intensidad en la especie de *I. amancaes*, y de poca intensidad para *C. microstephium*. Para la identificación de estos compuestos, se realizaron ensayos con los reactivos de Dragendorff, Mayer

Tabla 1. Tamizaje fitoquímico de los bulbos de *Clinanthus microstephium* (Ravenna) Meerow e *Ismene amancaes* (Ker Gawl.) Herb. (Amaryllidaceae)

Fitoconstituyentes	Ensayo	*Ismene amancaes*			*Clinanthus microstephium*		
		ED	EE	EA	ED	EE	EA
Alcaloides	Dragendorff	-	+++	++	-	+	+
	Mayer	-	+++	++	-	+	+
	Wagner	-	+++	++	-	+	+
Compuesto fenólicos	Cloruro férrico		++			++	
Flavonoides	Shinoda		+	+		+	+
Antocianidinas	Antocianidina		+			+	
Catequinas	Catequinas		-			-	
Taninos	Gelatina-sal			-			-
Lactonas y/o cumarinas	Baljet		-			+	
Triterpenos y Esteroides	Lieberman-Buchard	+	+		+	+	
Cardenólidos	Kedde		-			-	
Quinonas	Bornträger		-			-	
Saponinas	Espuma		-	-		-	-
Azúcares reductores	Fehling		+	+		+	+
Aceites y grasas	Sudan III	+			+		
Aminoácidos	Ninhidrina		+			+	
Resinas	Resinas		+			+	
Mucílagos	Mucílagos			+			+

LEYENDA: Los espacios en blanco significan que estos ensayos no se realizaron al extracto

ED: Extracto de diclorometano; EE: Extracto etanólico; EA: Extracto acuoso

Intensidad: (+): poca; (++): moderada; (+++): alta.

Identificación: (+): presencia (-): ausencia

& Wagner, los que produjeron con las sales de estos compuestos, precipitados de color rojo anaranjado, blanco lechoso y marrón respectivamente (Miranda & Cuéllar, 2000). Esta familia se caracteriza por tener alcaloides del tipo isoquinolina, los cuales se constituyen en sus marcadores quimiotaxónomicos (Cabezas *et al.*, 2010).

Se han encontrado una amplia gama de actividades farmacológicas de estos compuestos. Algunos estudios *in vitro* demuestran que poseen actividad antiviral (Ieven *et al.*, 1982), antibacterial (Cheesman *et al.*, 2012), antiparasitaria (Sener *et al.*, 2003), antimalárica (Nair *et al.*, 2000). Asimismo, otros estudios demuestran que el alcaloide licorina, posee un efecto anticancerígeno (Lamoral-Theys *et al.*, 2009) demostrándose que este compuesto puede combatir células cancerígenas modificando la actina del citoesqueleto de estas células, alterando así su migración y proliferación. Otro alcaloide aislado de los bulbos de las especies de Amaryllidaceae es la galantamina, que al usarse como tratamiento es bien tolerado en pacientes con enfermedad de

Alzheimer leve a moderadamente grave y ha demostrado efectividad cognitiva, funcional y conductual en la práctica clínica habitual (Blesa *et al.*, 2006). Estos alcaloides se originan como consecuencia de una sobreproducción del aminoácido tirosina, componente substancial en la biosíntesis de estos compuestos, la cual se cree tiene lugar en los bulbos de estas especies, debido a que es donde se encuentran en mayor concentración los alcaloides (Bergoñón, 1994).

Otro grupo de compuestos bioactivos hallados en los bulbos estudiados son los compuestos fenólicos, que se evidenciaron con la aparición de color verde al reaccionar con cloruro férrico (Miranda & Cuellar, 2002). Estos son un grupo de sustancias que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, que se encuentran frecuentemente como glicósidos, combinados con unidades de azúcar. Dentro de este grupo, están los flavonoides los cuales dieron reacción positiva en ambas especies al reaccionar con el reactivo de Shinoda. En la reacción de Shinoda, el magnesio metálico es oxidado por el HCl concentrado, dando como productos al H_2 que es eliminado en forma de gas, y al $MgCl_2$ el cual forma complejos con los flavonoides dando las coloraciones características. Como características generales de estos compuestos, debemos señalar, su solubilidad en agua y etanol, su carácter fenólico y su intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro debido a la presencia de sistemas aromáticos conjugados; de allí, el fundamento por el cual se identificó en el extracto acuoso y etanólico de 70º y no en el extracto diclorometánico (Miranda & Cuellar, 2001). El ensayo para antocianidinas resultó positivo y con la misma intensidad para ambas especies. Esto se fundamenta en que los antocianósidos, debido al núcleo del flavilio, son muy inestables en disoluciones acuosas, lo que se manifiesta por cambio de coloración de las mismas en función del potencial del ion hidrogenión (pH): en medio ácido predomina el ion flavilio (rojo), en medio neutro o ligeramente ácido predomina la base libre (Barahona & Rivera, 2006).

En los estudios de bulbos de especies de la familia Amaryllidaceae, se han reportado la presencia de diversos compuestos fenólicos con una amplia gama de propiedades terapéuticas e industriales, como es el caso del ácido hidroxibenzóico, que es un ácido fenólico utilizado como conservante, debido a sus propiedades fungicidas y bactericidas; el floroglucinol que es un trifenol usado en síntesis de explosivos y fármacos, y terapéuticamente como miorelajante (Bonkanka, 2007), además del allixin, compuesto con propiedades antivirales, antiinflamatorias y antioxidantes (García & Sánchez, 2000). También, se han hallado flavonoides como la quercetina en los bulbos del "ajo" que le confieren efectos benéficos para el asma y alergias (Córdova, 2010), y kaempferol en los bulbos de la "cebolla", el cual posee propiedades antioxidantes y anticancerígenas (Bilyk *et al.*, 1984; Murphy *et al.,* 2007).

Las lactonas y cumarinas solamente fueron encontradas en la especie *C. microstephium.* Estos metabolitos, son potentes anticoagulantes y bactericidas, los cuales dieron reacciones positivas con Baljet, dando coloración roja. Además, se han reportado que estos compuestos poseen actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antialérgicas, hepatoprotectoras y anti HIV (Kostova *et al*., 2006).

Por otro lado, se encontraron triterpenos y esteroides en ambas especies, los cuales

al dar una coloración azul verdosa con el reactivo de Lieberman-Burchard, indicaron un ensayo positivo. La reacción de Liebermann-Burchard es típica de los esteroides que contienen dos dobles enlaces conjugados en un mismo anillo, en dos anillos adyacentes o un doble enlace de un anillo adyacente con un grupo hidroxilo. La reacción debe realizarse en un medio absolutamente anhidro, ya que, al existir moléculas de agua estas reaccionan con el anhídrido acético, anulando de esta manera, la reacción con el núcleo esteroidal o triterpenoide (Valencia, 1995). El diclorometano solubiliza a la muestra favoreciendo la captación de alguna molécula de agua presente, y el ácido sulfúrico favorece la deficiencia electrónica del anhídrido acético, el cual es estabilizado por los electrones de los dobles enlaces (dienos) conjugados, dando de esta manera, la coloración respectiva (Ganoza, 2001). En relación a estos compuestos, también han sido hallados en los bulbos de otras especies de esta familia como *C. jagus.* (Akintola *et al.*, 2013) y *C. purpurascens;* siendo los esteroides en las hojas de esta última especie, agentes antibacterianos más activos que los alcaloides contra bacterias como *E. coli, P. aeruginosa, S. aureus, K. pneumoniae*, y *S. typhi* (Nkanwen *et al.*, 2009).

También, el ensayo para identificar los azúcares reductores, resultó positivo en los extractos etanólicos y acuosos en ambas especies. Esto se justifica, debido a que los azúcares se caracterizan por ser altamente polares, a consecuencia del marcado número de grupos hidroxilo (OH) que poseen. En el ensayo se emplearon diferentes reactivos; el llamado Fehling A, que es una solución acuosa de sulfato de cobre (II) y el Fehling B, que contiene hidróxido de sodio y tartrato de sodio y potasio. La función de este último, es formar un quelato con el Cu^{2+} y evitar que este sea precipitado por lo iones de hidróxido. Al mezclarlos, se genera el tartrato de cobre (II) que reacciona con la forma abierta del azúcar reductor, específicamente con el grupo aldehído (que en las 2-hidroxicetonas, puede producirse por una tautomería). Como productos se va a llevar a la oxidación del grupo aldehído, hacia el carboxílico correspondiente y un metal con su mínimo estado positivo de oxidación (Cu^{1+}). Esta peculiar forma del metal, se caracteriza por presentar un color rojo-ladrillo, característico de una reacción positiva para dicho ensayo (Martínez, 1991; Lock, 1994). Del mismo modo, también se encontraron azúcares reductores en los bulbos *Crinum defixum,* especie perteneciente a las Amarilidáceas (Shilpa *et al.*, 2012).

El reactivo Sudán III, es utilizado fundamentalmente para detectar la presencia de lípidos en una muestra, encontrándose reacciones positivas con la característica coloración rojiza en los extractos de diclorometano de las especies analizadas. Esto se debe, a que el compuesto Sudán III, por su baja polaridad, es más soluble en los lípidos que en el solvente utilizado para su disolución (etanol). Ello, gracias a las interacciones intermoleculares de tipo puente H y de London (cadena hidrocarbonada) entre los lípidos y dicho reactivo. También, se han encontrado lípidos en los bulbos de otras especies de diferente género, pero, de la misma familia (Ganiya *et al.*, 2011).

Además, otros de los fitoconstituyentes encontrados fueron los aminoácidos, cuya identificación se realizó mediante el ensayo de ninhidrina, los cuales dieron color azul violáceo. La reacción del grupo amino con ninhidrina, es quizás la más empleada en el reconocimiento y determinación de aminoácidos. En esta

reacción, cada equivalente de aminoácidos consume dos equivalentes de ninhidrina. El primer equivalente, sirve para oxidar el aminoácido y el segundo reacciona con el NH_3 y la ninhidrina reducida (hidridaintina) formados en la reacción anterior para dar un compuesto coloreado característico. Los aminoácidos libres constituyen el grupo de los aminoácidos no proteicos. Estos se caracterizan por ser de mediana a elevada polaridad, debido, a que poseen grupos amino y carboxilo, los cuales le confieren la polaridad relativa, lo que explicaría su presencia en este extracto etanólico. Estos compuestos, son importantes para el crecimiento y desarrollo de la planta; así como, para aliviar el estrés vegetal provocado por el exceso o falta de agua, viento, calor, frío, granizo, salinidad, entre otros. Asimismo, otras especies de esta familia denotan la presencia de estos metabolitos (Shilpa *et al.*, 2012); aunque también, existen algunos bulbos donde los aminoácidos no se encuentran presentes como es el caso de *C. ornatum* (Oloyede & Yunus, 2011).

Finalmente, se encontró resinas en los extractos etanólicos estudiados y mucilagos en los extractos acuosos. Estos metabolitos se encuentran presentes en otras especies de la misma familia vegetal, como es el caso, de la oleorresina del "ajo", la cual posee una importancia comercial e industrial (Cardona & González, 2007); sin embargo, en relación a los mucilagos, algunas especies denotan la presencia de estos (Patel *et al.*, 2010) lo que coincide, con el presente trabajo, no obstante, en otras no se detectaron estos fitoconstituyentes en sus bulbos (Ode *et al.*, 2010); podría deberse esto, a aspectos edáficos o propiamente génicos.

La amplia gama de compuestos encontrados, prevén el potencial terapéutico de estas especies, para lo cual, se necesitan estudios farmacológicos más profundos para posteriormente identificar, aislar, purificar y caracterizar los metabolitos responsables de sus actividades biológicas más sobresalientes.

Conclusiones

- Se realizó para el país, las primeras descripciones exomorfológicas detalladas *in situ* de *Clinanthus microstephium* (Ravenna) Meerow e *Ismenes amancaes* (Ker Gawl.) Herb (Amarylliadaceae) dos especies endémicas del Perú.

- Los bulbos de *Clinanthus microstephium* (Ravenna) Meerow e *Ismenes amancaes* (Ker Gawl.) Herb (Amarylliadaceae), presentan una gran variedad de fitoconstituyentes, entre los que destacan: alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, antocianidinas, triterpenos, esteroides, azúcares reductores, aceites y grasas, aminoácidos, resinas y mucílagos en ambas especies y lactonas y cumarinas solo en *Clinanthus microstephium.*

Agradecimientos

Nuestra gratitud a las autoridades de la Universidad Privada Antenor Orrego de Trujillo, por su constante apoyo y facilidades para la realización de las expediciones botánicas. Nuestro especial agradecimiento al Dr. Alan W. Meerow de la Unidad de Genética Vegetal del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos(USDA) con sede en Miami (USA) quien ha confirmado la determinación de las dos especies estudiadas. Al Prof. Segundo Leiva González, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego de Trujillo, Perú, por su apoyo en la conducción de las exploraciones botánicas.

Literatura citada

Akintola, A. O.; A. O. Kehinde; O. E. Adebiyi & O. G. Ademowo. 2013. Anti-tuberculosis activities of the crude methanolic extract and purified fractions of the bulb of *Crinun jagus*. Niger. J. Physiol. Sci. 28(2):135-140.

Barahona, C. & M. Rivera. 2006. Obtención de indicadores ácido – base a partir de cáscara de *Phaseolus vulgaris* (fríjol negro). Tesis de licenciatura. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. San Salvador. El Salvador.

Bergoñon, S. 1994. Aislamiento y caracterización química de alcaloides del tipo amaryllidaceae: producción de galantamina por cultivos *in vitro* de *Narcissus confusus*. Tesis doctoral. Unidad de Fisiología Vegetal. Facultad de Farmacia. Barcelona. España.

Bilyk, A.; P. Cooper & M. Sapers. 1984. Varietal differences in distribution of Quercetin and Kaempferol in Onion (*Allium cepa* L.) tissue. J. Agric. Food Chem. 32(2):274-276.

Blesa, R.; G. García Ribas; L. Galdós; J. Olascoaga; G. Amer; J. Marey; M. Barquero; C. Marsall & D. Ezpeleta. 2006. Estudio observacional sobre seguridad, tolerabilidad y efectividad de la galantamina en pacientes con enfermedad de Alzheimer leve a moderadamente grave. Neurología, 20 (6): 289-296.

Bonkanka, C. 2007. Evaluación farmacológica de terpenos y flavonoides de origen vegetal. Tesis doctoral. Universidad de la Laguna. Canarias. España.

Cabezas, F.; J. Argoti, & S. Martínez. 2010. Alcaloides y actividad biológica en *Eucharis amazonica, E. grandiflora,Caliphruria subedentata* y *Crinum kunthianum*, especies colombianas de Amaryllidaceae. Scientia et Technica Año XIII, No 33. 237-241.

Cardona, L. & P. Pareja. 2007. Obtención y caracterización de la oleorresina del ajo. Tesis de grado. Escuela de Química. Facultad de Tecnología. Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira. Colombia.

Cheesman, L.; J. J. Nair & J. van Staden. 2012. Antibacterial activity of crinane alkaloids from Boophonedisticha (Amaryllidaceae). Journal of Ethnopharmacology; 140 (2): 405-408.

Córdova, M. A. 2010. Extracción y purificación de alicina a partir de ajo (*Allium sativum* L.): implicaciones analíticas. Tesis de maestría. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Instituto Politécnico Nacional. Oaxaca. México.

Ganoza, M. 2001. Fundamentación química de las reacciones de coloración y precipitación en la identificación de metabolitos secundarios de plantas medicinales. Tesis. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo:8-10.

García, J.; & F. Sánchez. 2000. Efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*). Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 50 (3): 219-229.

García, R. 2008. Diferencias entre metabolismo primario y secundario. Universidad Autónoma Chapingo. México. [en internet] 2008 [Fecha de acceso: 5 de noviembre del 2010]. Disponible en: http://bioquimvegrosgar.wordpress.com/category/investigacion-metabolismo-primario/

Ieven, M.; A. J. Vlietinck; D. A. VandenBerghe; J. Totte; R. Dommisse; E. Esmans & F. Alderweireldt. 1982. Plant antiviral agents. III. Isolation of alkaloids from *Clivia miniata* Regel (Amaryllidaceae). J. Nat. Prod., 45 (5): 564-73.

Kostova, I.; S. Raleva; P. Genova & R. Argirova. 2006. Structure-activity relationships of synthetic coumarins as HIV-1 inhibitors. Bioionorg. Chem. Applic. 2006(68274):1-9,

Lamoral-Theys, D.; A. Andolfi; G. Van Goietsenoven; A. Cimmino; B. Le Calvé; N. Wauthoz; V. Mégalizzi; T. Gras; C. Bruyère; J. Dubois; V. Mathieu; A. Kornienko; R. Kiss & A. Evidente. 2009. Lycorine, the Main Phenanthridine Amaryllidaceae Alkaloid, Exhibits Significant Anti-Tumor Activity in Cancer Cells tha Display Resistance to Proapoptotic Stimuli: an Investigation of Structure-Activity Relationship and Mechanistic Insight. J. Med. Chem., 52 (20): 6244-6265.

Lock, O. 1994. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. 2ª. Ed. Fondo Editorial, PUCP, Lima, Perú.

Martínez, A. 1991. Farmacognosia y fitoquímica experimental. Universidad de Antioquia. Medellín.

Miranda, M. & A. Cuellar. 2001. Farmacognosia y productos naturales. 1era ed. Edit. Félix Varela. La Habana, Cuba. :147-170.

Miranda, M. & A. Cuéllar. 2002. Manual de Prácticas de laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. Universidad de La Habana. Instituto de Farmacia y Alimentos. Ciudad Habana. pp. 41-52.

Murphy, S.; L. Wilkens; B. Henderson & L. Kolone. 2007. Flavonols and Pancreatic Cancer Risk. American Journal of Epidemiology 166(8): 924–931.

Nair, J.; A. Machocho; W. Campbell; R. Brun; F. Viladomat; C. Codina &J. Bastida. 2000. Alkaloids from *Crinum macowanii.* Phytochemistry. 54(8):

945-950.

Nkanwen, E. R. S.; D. Gasting; D. Ngamga; S. P. C. Fodouop &P. Tane. 2009. Antibacterial agents from the leaves of *Crinum purpurascens* herb (Amaryllidaceae). Afr Health Sci. 9(4):264-269.

Ode, O. J.; C. O. Nwaehujor & M. M. Onakpa. 2010. Evaluation of antihaemorrhagic and antioxidant potentials of *Crinum jagus* bulb. Int J Appl Biol Pharm Technol. 1(3): 1330-1336.

Oloyede, G. & R. Yunus. 2011. Preleminary anticonvulsant Screening of *Crinum ornatum* Bulb Extrac. African J. Basic & Appl. Sci. 3(5): 235-238.

OMS. 2002. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005. Ginebra.

Patel, J. B.; R. D. Dangar; R. R. Dangar; B. H. Patel; D. R. Parmar & K. N. Shah. 2010. A Review: *Crinum asiaticum*. Int. J Pharm. App Sci. 1(2): 25-28.

Sener, B.; I. Orhan & J. Satayaviva. 2003. Antimalarial activity screening of some alkaloids and the plant extracts from Amaryllidaceae, 17 (10): 1220-3.

Shilpa, K.; R. Harish & B. Krishnaveni. 2012.Anti-inflammatory Activity of *Crinum defixum* Ker-Gawl. IJPSDR. 4(2): 147-149

Torres, K. 2013. Obtención de extractos, aislamiento y caracterización de metabolitos secundarios de P*assiflora cumbalensis, P. manicata* y *P. indecora* con actividad citotóxica. Tesis. Universidad Técnica Particular de Loja. Ecuador.

UNIDO. 2006. El futuro de los productos andinos en la región alta y los valles centrales de los andes: Plantas medicinales. Informe ROADMAPPING PERÚ. Disponible en: http://www.unido.org/fileadmin/import/69929_Informe__Informe_nacional__PERU.pdf.

Valencia, C. 1995. Fundamentos de fitoquímica. Edit. Trillas. México DF. México.

Villar, A. 1999. Farmacognosia General. Ed. Síntesis. España. 1999. pp: 136-267.

ANEXO



Anexo 1. A. Ejemplar de *Clinanthus microstephium*; B. Recolecciòn de *Clinanthus microstephium*; C. Bulbo con raices de *Clinanthus microstephium*; D. Bulbo de *Clinanthus microstephium*; E. Polvo de bulbos de *Clinanthus microstephium* (Fotografías *M. Soto*).



Anexo 1. A. Ejemplar de *Ismene amancaes*; B. Recolecciòn de *Ismene amancaes*; C. Recolecciòn de *Ismene amancaes*; D. Bulbos con raíces de *Ismene amancaes*; E. Bulbos de *Ismene amancaes*; F. Polvo de bulbos de *Ismene amancaes* (Fotografías: A, B, D, E y F, *M. Soto*; C, *S. Leiva*, HAO).